

| Микроорганизм | Препарат, активность мкг/мл | | | |
|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------|
| | Гиалуронидаза 1мг/мл | Гиалуронидаза 0,25мг/мл | IgАН | IgАН 1:3 |
| <i>Kl. pneumoniae</i> | 0,2; 0,2 - 0,4, n=3 | 0,03; 0,02 - 0,06, n=4 | 9,3; 8,2 - 9,8, n=4 | 3,3; 2,3 - 4,0, n=4 |
| <i>Acinetobacter spp</i> | 0,8; 0,6 - 0,8, n=3 | 0,7; 0,6 - 0,1, n=4 | 17,9; 17,8 - 17,9, n=4 | 6,9; 4,1 - 7,7, n=4 |
| <i>S. aureus</i> | 6,2; 4,9 - 6,9, n=16 | 0, n=4 | 8,7; 7,4 - 9,1, n=4 | 2,0; 1,9 - 2,2, n=4 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0,3; 0,2 - 0,9, n=3 | 0,05; 0,01 - 0,08, n=4 | 0,9; 0,4 - 1,5, n=4 | 0, n=4 |

Выводы.

1. Изучена способность препаратов свежемороженой плазмы, донорского альбумина, гиалуронидазы 1 типа, иммуноглобулина антистафилококкового человеческого разрушать экзополимерный матрикс *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*, *Acinetobacter spp*.

2. Выявлены статистически достоверные различия в способности препарата донорского альбумина разрушать матрикс *S. aureus* и *Kl. pneumoniae*.

3. Выявлены статистически достоверные различия в способности гиалуронидазы 1 типа разрушать матрикс *S. aureus* и *Kl. pneumoniae*.

Литература:

1. Чучалин, А. Г. Плевра: патофизиологические и клинические аспекты / А.Г. Чучалин // Пульмонология. – 1999. – № 1. – С. 6–10.

2. Дунаев, А. П. Лучевая диагностика острых деструктивных воспалительных процессов в легких / А. П. Дунаев, Ж. В. Шейх. – М. : Издат. дом Видар-М, 2016. – 104 с.

3. Stewart, P. S. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms / P. S. Stewart, J. W. Costerton // Lancet. – 2001. – № 358. – P. 135–138.

4. Колчанова, Н. Э. Определение образования микробной биоплёнки бактериями периодонтального кармана и ее устойчивости к химическим и биологическим объектам / Н. Э. Колчанова, В. К. Окулич, В. Е. Шилин // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 3. – С. 56–61.

СПОСОБ УСКОРЕНИЯ ФИКСАЦИИ БИОПСИЙНОГО МАТЕРИАЛА ДОБАВЛЕНИЕМ В ФОРМАЛИН ДИМЕКСИДА

Крылов А. Ю.,¹ Крылов Ю. В.,² Янченко В. В.,³ Млявый А. Н.²

ГУО «Институт повышения квалификации и переподготовки кадров
Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»¹
УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро»²
УО «Витебский государственный медицинский университет»³

Актуальность. В настоящее время высокоэффективные таргетные лекарственные средства в онкологии назначаются по результатам иммуногистохимического (ИГХ) исследования. В свою очередь их результаты во многом зависят от качества фиксации исследуемого материала [1]. В наших предыдущих исследованиях [2, 3] для оценки скорости и полноты фиксации мы использовали забуференный формалин с добавлением водорастворимого пищевого красителя E124 (понсо 4R), проникающий в фиксированные ткани и визуализирующий зафиксированные участки биопсийного материала путём прямого видимого окрашивания в красный цвет (заявка на патент № а20160264 от 07.07.2016г.). Важно отметить, что в процессе обезвоживания материала краситель вымывается и не влияет на качество гистологических препаратов и ИГХ исследований. Этим методом на материале срочных биопсий лейомиом больших размеров проведен анализ скорости и полноты фиксации, а так же мониторинг качества фиксации тканей рака молочной железы (РМЖ) поступивших на исследование в отделение онкоморфологии УЗ «Витебского областного клинического патологоанатомического бюро» [2].

Цель исследования – разработка способа ускорения фиксации биопсийного материала добавлением в формалин димексида.

Материал и методы. Материалом исследования явился операционный материал (матка - три случая) доставленные на срочное гистологическое исследование после операции резекции матки по поводу лейомиомы больших размеров, из которых были отобраны 70 образцов ткани размером 1х1х0,4см. для контрольной и опытной групп. В контрольной и опытной сериях в забуференный формалин добавлялся пищевой краситель E124 (понсо 4R) (1мг/мл) окрашивающий ткани в красный цвет. В фиксирующий раствор для образцов опытной группы дополнительно добавлялся - 100% раствор димексида в соотношении 1:4 для приготовления 20% раствора конечной концентрации. Для оценки скорости и полноты фиксации проведён морфометрический анализ площади прокрашивания кусочков в % (полученные данные документированы микрофотографиями с использованием цифровой системы считывания и ввода (ДСМ51), а так же программного обеспечения по вводу и предобработки ScopPhoto) в 43 образцах ткани контрольной группы и 27 образцах опытной.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Время фиксации и площадь окрашенных участков биоптатов в процентах

| Время фиксации, часов | Размер кусочков, см | Контрольная группа (фиксатор, краситель) | Опытная группа(фиксатор, краситель, димексид-20%) |
|-----------------------|---------------------|--|---|
|-----------------------|---------------------|--|---|

| | | | |
|----|-----------|--|--|
| 3 | 1x1x0,4см | полное прокрашивание двух кусочков, три кусочка прокрашены на 53%,40% и 37,5%. | полное прокрашивание двух кусочков, один кусочек прокрашен на 16,5%. |
| 6 | -//- | полное прокрашивание двух кусочков, три кусочка прокрашены на 72%;77,5% и 87%. | полное прокрашивание двух кусочков, один кусочек прокрасился на 57%. |
| 9 | -//- | полное прокрашивание двух кусочков, четыре кусочка прокрашены на 53%, 60%,73,5%,74%. | полное прокрашивание двух кусочков, один кусочек прокрасился на 57%. |
| 12 | -//- | полное прокрашивание трех кусочков, три кусочка прокрашены на 75%;76,5%, и 86,5%. | полное прокрашивание трех кусочков. |
| 18 | -//- | полное прокрашивание четырех кусочков, два кусочка прокрашены на 84,5% и 85%. | полное прокрашивание двух кусочков. |
| 24 | -//- | Шесть кусочков прокрашены на 32%; 57%; 77%; 92%; 93,5% и 95,5%; | полное прокрашивание восьми кусочков. |
| 48 | -//- | полное прокрашивание четырех кусочков, два кусочка прокрашены на 87% и 90%. | полное прокрашивание пяти кусочков. |
| 72 | -//- | полное прокрашивание трех кусочков. | |

Анализ данных таблицы 1 показывает, что полное прокрашивание всех образцов опытной серии с добавлением димексида наблюдалось уже через 12 часов фиксации, а в контрольной – только в трех кусочках из шести. В остальных трех образцах было прокрашено 75%,76% и 86%.

В двух наблюдениях РМЖ был проведен морфологический анализ, для выяснения влияния димексида на экспрессию маркеров, входящих в стандартную панель ИГХ исследования (ER, PR, Ki-67, HER2). При этом на 12 часах фиксации с добавлением в формалин димексида 20% концентрации экспрессия соответствовала 24 часам фиксации обычным способом.

Нами так же был проведен анализ почасовой фиксации в соотношении 100% димексид: раствор формалина 1:9 (10% раствор диметилсульфоксида) и 1:18 (5% раствор диметилсульфоксида), который выявил прямую зависимость скорости и глубины проникновения фиксатора от конечной концентрации димексида. Так фиксация с конечной концентрацией димексида 5% позволяла получить результаты аналогичные контрольной серии уже на 18 часах фиксации. Данное обстоятельство с экономической точки зрения подлежит дальнейшему изучению, с учетом разнообразия материала поступающего на исследование.

Выводы. Добавление димексида в забуференный формалин в конечной концентрации 20% позволило существенно ускорить фиксацию, при этом не искажая результаты ИГХ исследования экспрессии маркеров входящих в стандартную панель ИГХ исследования (ER, PR, Ki-67, HER2). Заявка на патент а20170089 от 24.03.2017г.

Литература:

1. Рак молочной железы : практ. рук. для врачей / Ю. Ю. Андреева [и др.] ; под ред. Г.А. Франк, Л. Э. Завалишиной, К. М. Пожарисского. – М. : Практ. медицина, 2014. – 176 с.
2. Оценка скорости и качества фиксации биопсийного материала при раке молочной железы / А. Ю.Крылов [и др.] // Охрана материнства и детства. – 2016. – № 2. – С.13–15.
3. Оценка скорости и полноты фиксации биопсийного материала добавлением в формалин пищевого красителя / А. Ю.Крылов [и др.] // Судебная экспертиза Беларуси. – 2017. – № 1. – С. 52–54.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРА ПРОЛИФЕРАЦИИ KI-67 КАК ПОКАЗАТЕЛЯ КАЧЕСТВА ФИКСАЦИИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Крылов А.Ю.,¹ Крылов Ю.В.,² Янченко В.В.,³ Млявый А.Н.²

ГУО «Институт повышения квалификации и переподготовки кадров
государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»¹
УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро»²
УО «Витебский государственный медицинский университет»³

Актуальность. Учитывая значимость результатов иммуногистохимического исследования (ИГХ) для назначения таргетной противоопухолевой терапии, очевидна необходимость иметь в арсенале морфолога чувствительный способ оценки качества фиксации препаратов, поступающих на ИГХ исследования. Маркер пролиферации Ki-67 входит в обязательный набор, рекомендуемый для ИГХ исследования рака молочной железы (РМЖ) наряду с HER2, ER и PR, отсюда целесообразно выяснить возможность использования его в качестве показателя некачественной фиксации.

Целью исследования является изучение возможности использования в качестве показателя некачественной фиксации особенности локализации маркера пролиферации Ki-67 в образцах опухоли с отсроченной фиксацией.

Материал и методы. Для исследования использовали операционный материал пациенток, с РМЖ полученный после удаления опухоли. Материал был разделен на три группы: 1 группа контроль (фиксированная в течение 1 часа после взятия); 2 группа опытная (фиксация через 6 часов после взятия) –